WECHSELBEZIEHUNGEN ZWISCHEN BAKTERIEN UND PILZEN DES HOCHMOORES

Auszug aus der
Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Julius - Maximilians - Universität

Würzburg

Vorgelegt von Gerhard Reuther

Würzburg 1956

Tag der mündl. Prüfung
26. Juni 1956

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Nach Burgeff (1954) ist das vom Menschen unberührte Hochmoor ein Lebensraum mit einer weitgehend konstanten Mikroflora, die durch bestimmte extreme Bedingungen charakterisiert ist. Die hohe Azidität, die Armut an Mineralsalzen und die schlechte Durchlüftung schließen im Vergleich zu Acker- und Waldböden einen großen Artenreichtum an Mikroorganismen und höheren Pflanzen aus. Die weitverbreitete Mykorrhiza bei den Ericaceen schafft einen besonderen im Hochmoor vorherrschenden Pilztypus, die Ericaceensymbionten. Da die oberen Schichten des Hochmoores von Ericaceenwurzeln dicht durchsetzt sind, dürften ihre Mykorrhizapilze großen Einfluß auf den Abbau des Sphagmus und seiner Überführung in den fossilen Zustand haben. Neben diesen Pilzen kommen auch aerobe und fakultativ anaerobe Bakterien vor, deren Beteiligung bei diesen Prozessen noch zu belegen ist.

Aufgabe dieser Untersuchungen war es, den Antagonismus und Synergismus zwischen Symbionten und Nichtsymbionten einerseits und den Bakterien andererseits aufzuzeigen. Dabei wurden besonders der Abbau des Sphagnums und die biologische Aufarbeitung der daraus entstehenden Stoffe zu Huminsäuren berücksichtigt. Statt der eingeführten Standardmedien fanden natürliche Substrate aus dem Hochmoor bei der Durchführung der Teste Verwendung, um ein schnelles Degenerieren der Organismen zu verhindern.

Es wurden folgende Organismen untersucht:

1. 15 Ericaceensymbionten der Gattung Cladosporium nahestehend,
2. 4 Mortierellen,
3. 2 Penicillien,
4. 2 Verticillien,
5. 3 fakultativ anaerobe Bakterienstämme.

Als Nährsubstrat diente 1%iger Sphagnumagar bzw. ein den natürlichen Gegebenheiten angepaßter synthetischer Nährboden (E 43 nach Burgeff) und zwecks Gewinnung der Pilz- oder Bakterienkulturfiltrate ganze Sphagnumpflänzchen oder nur ein Aufsud.

Teil I.

Antagonismus und Synergismus zwischen Bakterien und Pilzen.

1. Das Verhalten der Pilze zueinander.

In Mischkulturen haben sich diejenigen Pilze mehr oder weniger stark gehemmt, deren Nährstoffansprüche und Wachstumsgeschwindigkeit sich ungefähr entsprachen, so die Symbionten unter sich und die Nichtsymbionten. Wurden beide Pilztypen miteinander kombiniert, erfolgte nach anfänglicher Hemmung ein langsames Weiterwachsen (vgl. Oppermann 1951). Der Filtrattest verlief in allen Fällen negativ, was bewies, daß zwischen Ericaceensymbionten und anderen Pilzen des Hochmoores kein echter Antagonismus im Sinne einer Antibiose vorlag, sondern daß es sich bei den Mischkulturen um eine Erschöpfung des Nährbodens handelte.

2. Das Verhalten der Bakterien zueinander.

Im Strichtest zeigten die Stämme auf Sphagnumagar eine Hemmung, die umso stärker war, je länger der als Antagonist fungierende Stamm vorkultiviert wurde. Der Filtrattest jedoch konnte diese Ergebnisse nicht bestätigen. Auf einem verstärkten Nährsubstrat hat der Zusatz bei einem Stamm die Bildung eines Antibiotikums angeregt.

3. Die Beeinflussung der Bakterien durch Pilze.

Diese bisher meist untersuchte Art von Wechselbeziehungen zwischen Mikroorganismen stand auch hier im Mittelpunkt der Untersuchungen. Eine Übersicht über die verschiedenen Hemm- und Förderzonentypen findet sich bei Wallhäuser (1951) und Oppermann (1951). Die in den Mischkulturen homogen aufgeschwemmten Bakterien wurden von allen untersuchten Ericaceensymbionten und von einem Penicilliumstamm (Nichtsymbiont) zum Teil sehr stark gefördert (besonders von Cladosporium macrocarpum Preuß). Häufig war eine Wallbildung zu beobachten. Auch die

mit den Wirtspflanzen in Verbindung stehenden Symbionten waren in der Lage, die Bakterien zu fördern.

Die Lochtestmethode beim Filtrattest brachte eine völlige Übereinstimmung mit den Ergebnissen des Vitaltestes. Nach zwei Wochen Kultur hatten die Symbionten und Penicillium bereits große Mengen von Förderstoff in die Kulturlösung abgegeben. Um den Einfluß des Förderstoffes auf die physiologische Aktivität der Bakterien genauer zu erfassen, wurde ihre CO_2-Produktion in bereits abgestorbenen Sphagnumteilen als Nährsubstrat unter Zugabe einer geringen Menge Kulturlösung von Cladosporium macrocarpum untersucht. Bei einem Stamm (15 G) ergab sich eine Stimulierung, die zu einer 50,5% höher liegenden Ausbeute des Substrates führte als die normalen Kulturen; bei einem anderen (16/4) waren es 31,6%. Die Maxima und Minima der CO_2-Kurven der Normalkultur und der geförderten Kultur fallen zusammen. Die Bakterien vermochten sich an den Förderstoff anzupassen, so daß ihre Sensibilität im Lauf der Zeit nachließ, wie durch eine nochmalige Zugabe von Förderstoff zu bereits stimulierten Organismen nachgewiesen werden konnte; auch andere Versuche führten zu demselben Ergebnis. Die Virulenz der Bakterien war unter den genannten Kulturbedingungen in der zweiten Woche sehr stark zurückgegangen.

Das fördernde Agens war bei Raumtemperatur lange Zeit beständig, beim Erhitzen auf 80°C wurde es jedoch schnell inaktiviert. Eine Einengung der Pilzkulturlösung auf 1/6 des Volumens führte eine Hemmung des Bakterienwachstums herbei, eine Verdünnung auf das 90-fache ließ noch eine deutliche Förderung erkennen. Es handelte sich also um einen spezifischen Förderstoff mit den Eigenschaften eines Biokatalysators. Einige Aminosäuren und Aneurin vermochten die Pilze zur verstärkten Förderstoffproduktion anzuregen; eine direkte Förderung ist nicht eingetreten.

4. Die Beeinflussung der Pilze durch die Bakterien.

Eine Hemmung des Pilzwachstums durch die Bakterien konnte sowohl im Vitaltest als auch im Filtrattest festgestellt werden. Verschiedentlich trat dabei eine morphologische und farbliche

Anomalie der Pilzmyzelien (Porter 1932). Von den Nichtsymbionten wurde eine anfängliche Hemmung allmählich überwunden. Auch solche Pilze wurden gehemmt, die ihrerseits die Bakterien zu fördern vermochten.

Der Synergismus und Antagonismus zwischen den Mikroben der aeroben Schicht des Hochmoores ist ein wichtiger Faktor beim Abbau der Sphagna.

Teil II.

Wechselbeziehungen im Hinblick auf Melaninbildung.

1. Einfluß von Bakterien auf Pilzpigmentbildung.

Verschiedene Symbionten verfärbten sich bei Kultivierung auf Bakterienaufschwemmungen in Sphagnumagar dunkelgrün bzw. dunkelbraun. Auch das Filtrat von Bakterienkulturlösungen verursachte im Lochtest eine sektorale Pigmentierung. Durch Übertragung auf normalen Nährboden erlangten die Pilze wieder ihr ursprüngliches Aussehen.

2. Einfluß von Aminosäuren auf Pilzpigmentierung.

Da Aminosäuren die Pigmentbildung bei Pilzen stimulieren können (Küster 1955), wurde ihre Wirkung auch gegen Ericaceensymbionten untersucht. l(-)Tyrosin und d,l-Alanin waren besonders wirksam. Durch Glykokoll und l(-)-Asparagin wurde dieselbe dendroide Wuchsform hervorgerufen, die auch von den Bakterien ausgelöst wurde.

3. Oxydasenreaktion auf Tannin.

Die Umwandlung der Aminosäuren beruht auf der Wirkung von Oxydasen, die von den Pilzen gebildet werden. Um die Polyphenoloxydasenbildung bei den Moorpilzen genauer zu untersuchen, wurde die Methode der Tanninschwärzung nach Bavendamm (1928) angewendet. Neben vielen anderen werden auch ähnliche Untersuchungen von Burgeff (1936) an Orchideensymbionten berichtet. Verschiedene Symbionten und Nichtsymbionten bildeten schwarze Höfe auf Tanninagar. Da dieses Verhalten nach Bavendamm ein

Nachweis für Ligninabbaufähigkeit ist und Kox (1954) mit Moorpilzen den Zelluloseabbau untersucht hat, konnte daraufhin eine Klassifizierung in Korrosions- und Destruktionspilze vorgenommen werden. Es ist dies für die Humusbildung im Hochmoor von großer Bedeutung.

Bestimmte Pilze riefen eine Aufhellung des Nährbodens statt eine Schwärzung hervor. Durch Kultur der Pilze auf Tannin als einziger C-Quelle wurde der einwandfreie Nachweis erbracht, daß Penicillien und einige Ericaceensymbionten den Gerbstoff direkt verwerteten, ohne ihn oxydativ umzuwandeln. Das Tannin wurde vollständig verbraucht; denn es war mit Fe^{II}-Salz-Lösungen nicht mehr nachzuweisen.

4. Melaninbildung aus Tyrosin.

Wurde Tyrosin einem synthetischen Nährboden zugesetzt (E 43), so entstanden unter Einwirkung der meisten Symbionten braune Höfe. Auf der entsprechenden Nährlösung verfärbte sich das farblose Substrat im pH-Bereich von 6 - 8 innerhalb mehrerer Wochen von hellrot über dunkelrot bis schwarzbraun. $CuSO_4$ in Spuren katalysierte diesen Vorgang. Als einziger von allen Pilzen bildete ein Penicillium den Farbstoff nur innerhalb der Hyphen. Die Umwandlung des Tyrosins beruhte auf einer enzymatischen Oxydation durch die Tyrosinase, einer Polyphenoloxydase; das Endprodukt war Melanin (Raper 1927). Dieses polymere Produkt konnte nach einer Methode von Laatsch (1954) in verschiedene Fraktionen zerlegt werden, wobei echte Huminsäuren und Huminsäurevorstufen unterschieden werden konnten. Die Reduzierbarkeit mit verschiedenen Reduktionsmitteln erwies sich als Indikator für den Polymerisierungsgrad der chinoiden Vorstufen.

5. Melaninbildung aus Sphagnum.

Aus dem Hochmoor stammende natürliche Bakteriengemische und Symbionten haben in Mischkultur aus Sphagnum Melanin gebildet, während Bakterien und Pilze für sich allein dazu nicht in der Lage waren. Das durch Bakterien freigesetzte Sphagnumeiweiß oder dessen Aminosäuren dürften auf enzymatischem Wege

von den Pilzen in rote melanoide Substanzen umgewandelt worden sein, was auf eine Wechselbeziehung zwischen diesen Organismen hinwies.

6. Zur Entstehung von Huminsäuren im Hochmoor auf Grund bisheriger Untersuchungen.

Nach Souci (1938) gibt es drei große Gruppen von Humusstoffen: Ligninhumus, Gerbstoffhumus und Melaninhumus. Der Nachweis melaninbildender Tyrosinase bei den Ericaceensymbionten und die Freilegung von Eiweiß durch Baktetien deuten auf eine Mitwirkung dieser Organismen bei der Vertorfung hin. Diese Prozesse spielen sich vor allem in der untersten Zone der aeroben Schicht des Hochmoores ab, was auch in der stark dunkelbraunen Farbe dieser Zone zum Ausdruck kommt.

Literatur.

Bavendamm, W.: Neue Untersuchungen über die Lebensbedingungen holzzerstörender Pilze.- Cbl. f. Bakt. II 76, 1928-29.

Burgeff, H.: Samenkeimung der Orchideen.- Jena 1936.

Burgeff, H.: Microbiologie des tourbières sur les resultats des recherches en commun nommées: "Chiemseemoore und Bergener Becken" 8e Congrès Intern. de Botanique, Rapp. et Comm. Sec. 7 et 8, Paris 1954.

Kox, E.: Der durch Pilze und aeribe Bakterien veranlaßte Pektin- und Zelluloseabbau im Hochmoor unter besonderer Berücksichtigung des Sphagnumabbaus.- Arch. f. Mikrobiol. 20 1954.

Küster, E.: Humusbildung und Phenoloxydasen bei Streptomyceten.- Z. f. Pflanzenern. Düng. u. Bodenk. 69, 1955.

Laatsch, W.: Dynamik der mitteleuropäischen Mineralböden.- 3. Aufl. Dresden u. Leipzig 1954.

Oppermann, A.: Das antibiotische Verhalten einiger holzzersetzender Basidiomyceten zueinander und zu Bakterien.- Arch. f. Mikrobiol. 16, 1951.

Porter, C. L.: Mixed cultures of bacteria and fungi.- Indiana Acad. Sci. Proc. 41, 1947

Raper, H.S.: Einwirkung von Tyrosinase auf Tyrosin.- Z. f. Fermendforsch. 9, 1927.

Souci, S.W.: Die Chemie des Moores.- Stuttgart 1938

Wallhäuser, K. H.: Die antibiotischen Beziehungen einer natürlichen Mikroflora.- Arch. f. Mikrobiol. 16, 1951.

RUDOLF DAEHR DRUCK- UND WERBETECHNIK WÜRZBURG